



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（医学）
報告番号	甲第1604号
学位記番号	第1139号
氏名	大橋 圭
授与年月日	平成30年3月26日
学位論文の題名	<p>Combined genetic analyses can achieve efficient diagnostic yields for subjects with Alagille syndrome and incomplete Alagille syndrome.</p> <p>（アラジール症候群ならびに非定型アラジール症候群に対する体系的遺伝学的解析は有用である）</p> <p>Acta Paediatrica. 2017; 106(11): 1817-1824.</p>
論文審査担当者	<p>主査： 杉浦 真弓</p> <p>副査： 岡本 尚, 齋藤 伸治</p>

【背景】アラジール症候群 (Alagille Syndrome; ALGS) は *JAG1* もしくは稀に *NOTCH2* の変異により発症する常染色体優性遺伝性疾患である。その表現型や重症度は多岐にわたり、非定型例では分子遺伝学的診断を行うことは非常に重要である。また、胆道閉鎖症 (biliary atresia; BA) は ALGS の代表的な鑑別診断である。我々は ALGS、非定型 ALGS および BA に対する次世代シーケンサー (Next Generation Sequencing; NGS)、*JAG1* の Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA) 解析、microarray Comparative Genomic Hybridization (aCGH) 解析を用いた体系的遺伝学的解析の有用性を検討した。

【方法】ALGS の臨床診断基準の 5 項目 (胆汁うっ滞、先天性心疾患、眼球異常、骨格異常、特異的顔貌) 中、3 項目以上を満たす対象を ALGS 群、2 項目満たす対象を非定型 ALGS 群、また、術中胆道造影で胆道が造影されない対象を BA 群とした。最初に全ての対象に *JAG1* ならびに *NOTCH2* を含む新生児・乳児胆汁うっ滞の原因となる 18 遺伝子に対する NGS 解析を行った。次に NGS 解析で変異を認めなかった対象、もしくは *JAG1* の欠失が疑われた対象に *JAG1* の MLPA 解析を行った。更に MLPA 解析で *JAG1* の全エクソン欠失が同定された対象に aCGH 解析を行った。

【結果】ALGS 群 30 症例、非定型 ALGS 群 9 症例、BA 群 17 症例に遺伝学的解析を行った。ALGS 群では 24 症例 (80%)、非定型 ALGS では 4 症例 (44.4%) に病原性変異を同定したが、BA 群には病原性変異は同定されなかった。変異の種類は、ALGS 群では *JAG1* のミスセンス変異 4 症例、ノンセンス変異 6 症例、スプライス部位の変異 2 症例、微細な挿入もしくは欠失 7 症例、単一エクソンの欠失 1 症例、全エクソンの欠失 3 症例、*NOTCH2* のミスセンス変異 1 症例、また、非典型 ALGS 群では *JAG1* のミスセンス変異 1 症例、ノンセンス変異 1 症例、微細な挿入 1 症例、単一エクソンの欠失 1 症例であった。aCGH 解析では全エクソンの欠失の 3 症例中 1 症例は ALGS の症状のみとされる範囲内であったが、2 症例はその領域の範囲外に及ぶ欠失であった。

【考察】ALGS 群および非定型 ALGS 群における病原性変異の同定率は、これまでの報告とほぼ同程度であった。ALGS では約 15% で肝移植が必要となるとされている。病原性変異を有している場合は肝移植のドナーとなれないこと、非定型 ALGS でも 44.4% に病原性変異が同定されることを考慮すると、非定型 ALGS の患者や ALGS の診断基準を満たさない血縁者に於いても、ドナーの選定や遺伝カウンセリングの観点からも遺伝学的解析を行うことは重要と考えられた。同定された病原性変異の種類は、これまでの報告と比較するとエクソン単位の欠失が多かった。MLPA 解析はエクソン単位の欠失/挿入の同定に有用とされており、本解析では NGS 解析で変異が同定されなかった全対象に MLPA 解析を行っており、エクソン単位の欠失の同定に有効であったと考えられた。aCGH 解析において欠失範囲が ALGS 以外の症状を呈するとされる範囲に欠失が及んでいると同定された 2 症例中 1 症例は解析時点では新生児であり、合併症の出現の有無に関して慎重に観察する必要があると示唆された。

【結語】ALGS、非定型 ALGS および BA に対する NGS 解析、*JAG1* の MLPA 解析、aCGH 解析を用いた体系的遺伝学的解析は有用である。

## 論文審査の結果の要旨

【背景】アラジール症候群 (Alagille Syndrome; ALGS) は *JAG1* もしくは稀に *NOTCH2* の変異により発症する常染色体優性遺伝性疾患である。胆道閉鎖症 (biliary atresia; BA) は ALGS の代表的な鑑別診断である。我々は ALGS、非定型 ALGS および BA に対する次世代シーケンサー (Next Generation Sequencing; NGS)、*JAG1* の Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA) 解析、microarray Comparative Genomic Hybridization (aCGH) 解析を用いた体系的遺伝学的解析の有用性を検討した。

【方法】ALGS の臨床診断基準の 5 項目 (胆汁うっ滞、先天性心疾患、眼球異常、骨格異常、特異的顔貌) 中、3 項目以上を満たす対象を ALGS 群、2 項目満たす対象を非定型 ALGS 群、また、術中胆道造影で胆道が造影されない対象を BA 群とした。最初に全対象に *JAG1* ならびに *NOTCH2* に対する NGS 解析を行った。次に NGS 解析で変異を認めなかった対象、もしくは *JAG1* の欠失が疑われた対象に *JAG1* の MLPA 解析を行った。更に MLPA 解析で *JAG1* の全エクソン欠失が同定された対象に aCGH 解析を行った。

【結果】ALGS 群 30 症例、非定型 ALGS 群 9 症例、BA 群 17 症例に遺伝学的解析を行った。ALGS 群では 24 症例 (80%)、非定型 ALGS では 4 症例 (44.4%) に病原性変異を同定した。変異の種類は、*JAG1* のミスセンス変異 5 症例、ノンセンス変異 7 症例、スプライス部位の変異 2 症例、微細な挿入もしくは欠失 8 症例、単一エクソンの欠失 2 症例、全エクソンの欠失 3 症例、*NOTCH2* のミスセンス変異 1 症例であった。aCGH 解析では全エクソンの欠失の 3 症例中 1 症例は ALGS の症状のみとされる範囲内であったが、2 症例はその領域の範囲外に及ぶ欠失であった。

【考察】ALGS 群および非定型 ALGS 群における病原性変異の同定率は、これまでの報告とほぼ同程度であった。同定された病原性変異の種類は、これまでの報告と比較するとエクソン単位の欠失が多かった。MLPA 解析はエクソン単位の欠失/挿入の同定に有用とされており、本解析では NGS 解析で変異が同定されなかった全対象に MLPA 解析を行っており、エクソン単位の欠失の同定に有効であったと考えられた。aCGH 解析において欠失範囲が ALGS 以外の症状を呈するとされる範囲に欠失が及んでいると同定された 2 症例中 1 症例は解析時点では新生児であり、合併症の出現の有無に関して慎重に観察する必要があると示唆された。

【結語】ALGS、非定型 ALGS および BA に対する NGS 解析、*JAG1* の MLPA 解析、aCGH 解析を用いた体系的遺伝学的解析は有用である。

【審査の内容】約 20 分間のプレゼンテーションの後に、主査の杉浦真弓教授からそれぞれの遺伝学的解析法の特性、小児遺伝カウンセリングに関する注意点などを中心に 8 項目、第一副査の岡本尚教授から病原性変異の判断、*JAG1* および *NOTCH2* の変異による発症機序や病態などを中心に 10 項目の質問がされた。齋藤教授からは専門領域について新生児胆汁うっ滞疾患の全体像、それらの疾患に対する遺伝学的解析を行う意義などに関して 3 項目の質問がなされた。いずれの質問も満足のいく回答が得られ学位論文の主旨を十分に理解していると判断した。本研究はアラジール症候群ならびに胆道閉鎖症に対して体系的遺伝学的解析を行い、臨床・研究の両面において意義のある結果が得られた研究である。以上をもって、本論文の著者には博士 (医学) の称号と与えるに相応しいと判断した。

論文審査担当者 主査 杉浦 真弓

副査 岡本 尚、齋藤 伸治